# LC café

HPLCからもっと情報発信

エル・シー・カフェ

## 夏花号

2010 No.13

CONTENTS


p.1 資生堂のソフトはここまでできる!
～ソフトの話　応用編～

p.5 新製品データ
・オートサンプラー NANOSPACE NASCA によるCarryover試験
・Nucleonavi（Glass Clad Rod Column）による高速グラジエント分析への適応性

p.9 学会参加予定

p.10 Real LC café の開催予告・編集後記


SHISEIDO

# 1 資生堂のソフトはここまでできる！

前回に引き続きソフトウエアについてのお話です。今回はHPLCやLC-MS測定をもっと快適にするいろいろなツールをご紹介します。

## 波形以外のデータ取得

HPLCの目的は検出器の波形を取得することが第一ですが、他の情報を参照することでいろいろな問題に対し、より早く対処することができます。

- カラムの劣化や詰まり
- 移動相不足による送液不良
- 部品消耗による液漏れ

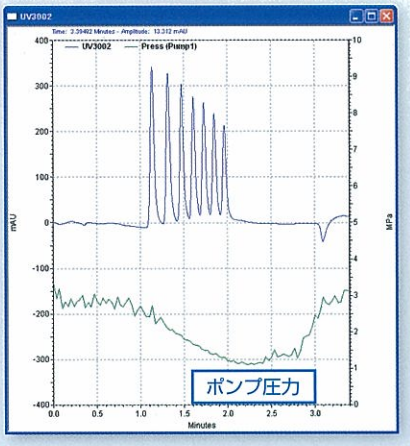
などなど・・・

HPLCを長くご使用の皆さまは必ず一度はこのような経験があるのではないでしょうか？

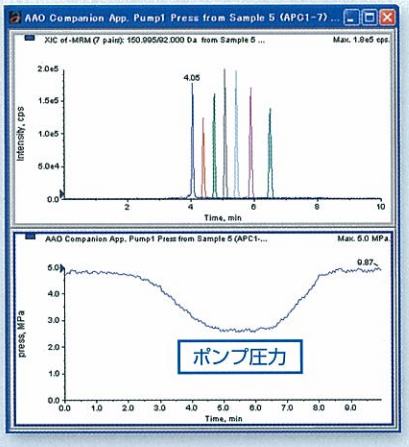
こういったことが発生した場合、何が原因か突き止めることは対処の際にとても重要になります。そのときに検出器波形以外の情報が手掛かりになります。

### ①ポンプの圧力波形の取得

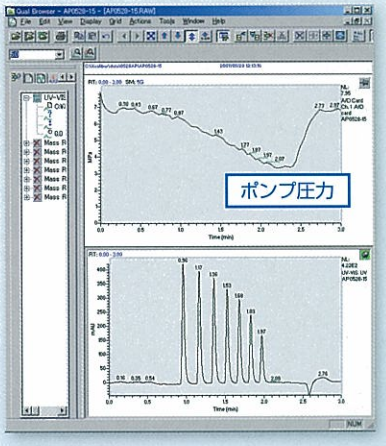
通常、同じ分析条件で連続測定を行うことが多いでしょうから、試料が異なっても得られる圧力波形は同じになります。分析結果に圧力波形も一緒に記録しておくと問題が起きたときに原因が早く突き止められることが多いです。資生堂のHPLC制御ソフトウエアはいずれもポンプ圧力波形をデータに記録することが可能です。




EZChrom

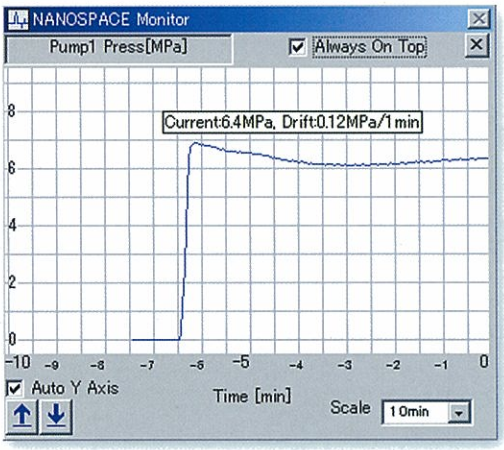



Analyst®




Xcalibur

※SMCの場合はポンプ背面のPressアナログ出力からADコンバータに接続し、波形として取り込みます。
また、資生堂LC-MSソフトウエア（Analyst®用、Xcalibur用）は測定とは非同期に常時表示されるポンプの圧力モニター機能も付帯しています。




カラム平衡化の確認にとても便利です！

上記のようにポンプの圧力を参照できますので、

圧力が上昇する　カラムなど流路の詰まり

圧力が低下する　流路の液漏れ

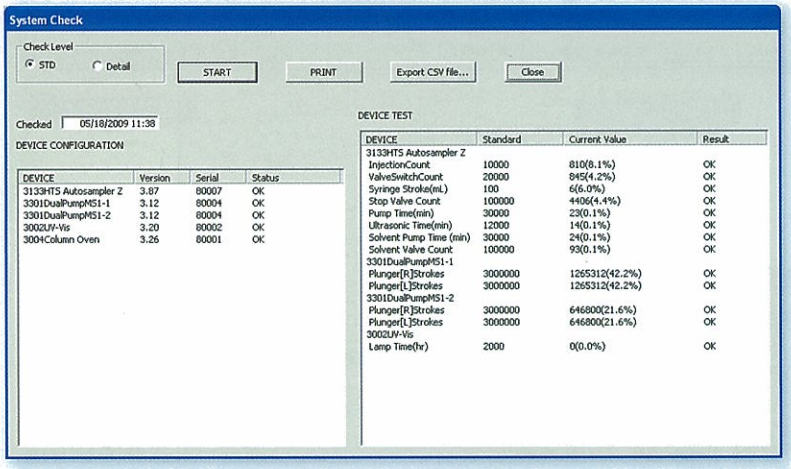
と容易に判断できます。

### ②GLP情報の取得

資生堂のソフトウエアにはGLP情報を一括して取得できる機能があります。

（EZChrom / Xcalibur / Analyst®用ソフトで対応しています）

[System Check]




| DEVICE | Version | Serial | Status |
|---|---|---|---|
| 3133HTS Autosampler Z | 3.87 | 80007 | OK |
| 3301DualPumpMS1-1 | 3.12 | 80004 | OK |
| 3301DualPumpMS1-2 | 3.12 | 80004 | OK |
| 3002UV-Vis | 3.20 | 80002 | OK |
| 3004Column Oven | 3.26 | 80001 | OK |

| DEVICE | Standard | Current Value | Result |
|---|---|---|---|
| 3133HTS Autosampler Z | | | |
| InjectionCount | 10000 | 810(8.1%) | OK |
| ValveSwitchCount | 20000 | 845(4.2%) | OK |
| Syringe Stroke(mL) | 100 | 6(6.0%) | OK |
| Stop Valve Count | 100000 | 4406(4.4%) | OK |
| Pump Time(min) | 30000 | 23(0.1%) | OK |
| Ultrasonic Time(min) | 12000 | 14(0.1%) | OK |
| Solvent Pump Time (min) | 30000 | 24(0.1%) | OK |
| Solvent Valve Count | 100000 | 93(0.1%) | OK |
| 3301DualPumpMS1-1 | | | |
| Plunger[R]Strokes | 3000000 | 1265312(42.2%) | OK |
| Plunger[L]Strokes | 3000000 | 1265312(42.2%) | OK |
| 3301DualPumpMS1-2 | | | |
| Plunger[R]Strokes | 3000000 | 646800(21.6%) | OK |
| Plunger[L]Strokes | 3000000 | 646800(21.6%) | OK |
| 3002UV-Vis | | | |
| Lamp Time(hr) | 2000 | 0(0.0%) | OK |

この機能でポンプのプランジャー駆動回数やサンプラーの注入回数といった消耗部の稼動累積を取得表示します。

それぞれに交換目安回数を設定可能ですので、目安に対しどの程度消耗が進捗しているか確認できます。なお交換目安は使用条件により異なりますので、初期値を参考情報として実際の使用法に合わせて設定することをお薦めします。

※これらの各機能の使用法はお手持ちの取扱説明書をご参考ください。

## MS用支援ソフトの活用

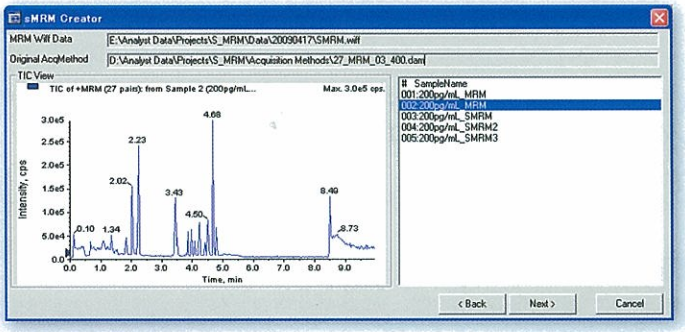
NANOSPACEのLC-MSソフトにはMS測定を支援する追加ソフトウエアも標準で付属しています。

### ■ sMRM Creator / tSRM Creator

Analyst®1.5（AB SCIEX社製）、Xcalibur2.1（Thermo Fisher Scientific社製）にはそれぞれScheduled MRM、Timed SRMという機能が追加されており、100成分を超えるような多成分定量測定には非常に有用な機能になっています。ただ、これらの機能を使用する場合、必ず標準試料を測定し、その結果から保持時間を成分ごとに設定する必要があります。

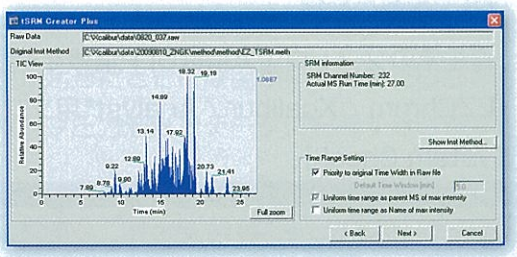
資生堂はこれらの機能をより有効に活用するためにsMRM Creator、tSRM Creatorというソフトウエアを開発し、当社LC-MSアドオンソフトに標準搭載しています。

このソフトウエアは取得済みの測定結果から保持時間を自動算出し、測定条件と定量解析条件の作成を支援するものです。



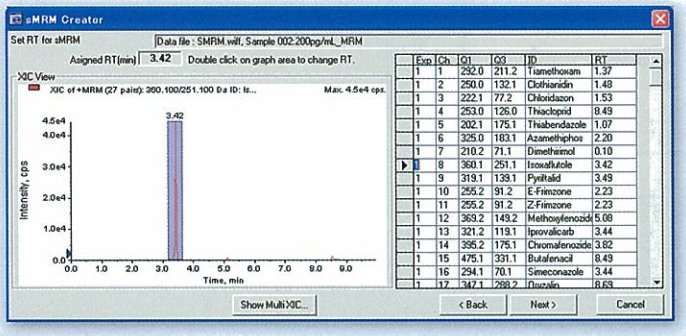

sMRM Creator

● 標準試料の測定結果を選択してTICを表示します。

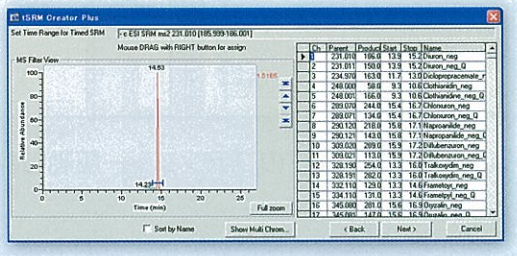



tSRM Creator

● マスクロマトグラムの最高点を保持時間として自動判定します。
時間の変更はマウス操作で容易に行えます。

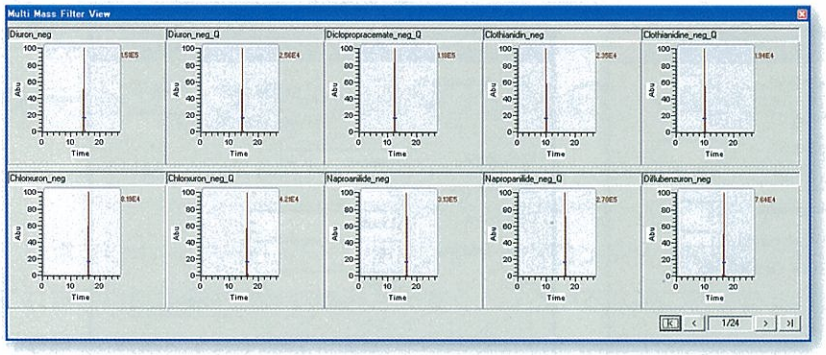



sMRM Creator

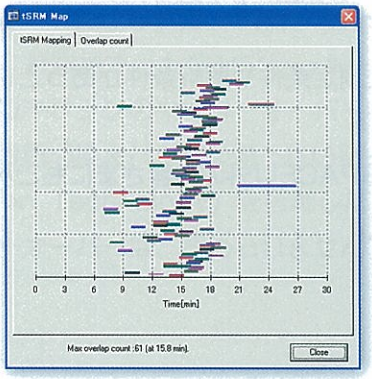



tSRM Creator

● クロマトグラムは10個ずつ表示することができます。

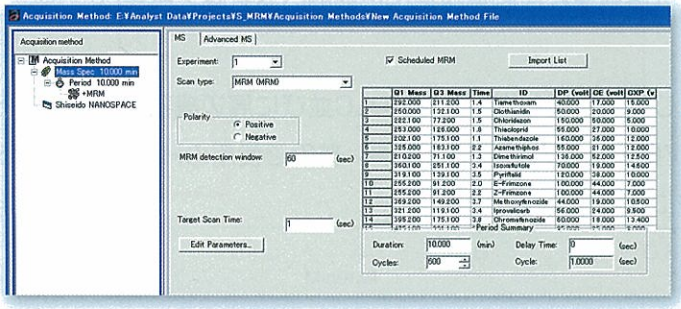



● 各Transitのマッピング状況をグラフで確認できます。

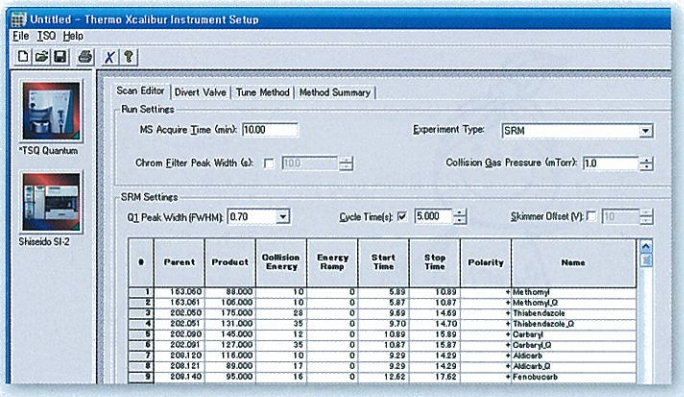


保持時間情報から測定用Methodを作成します。
（tSRM Creatorはインポート用csvファイルとして保存します。）

作成された測定Method例です。

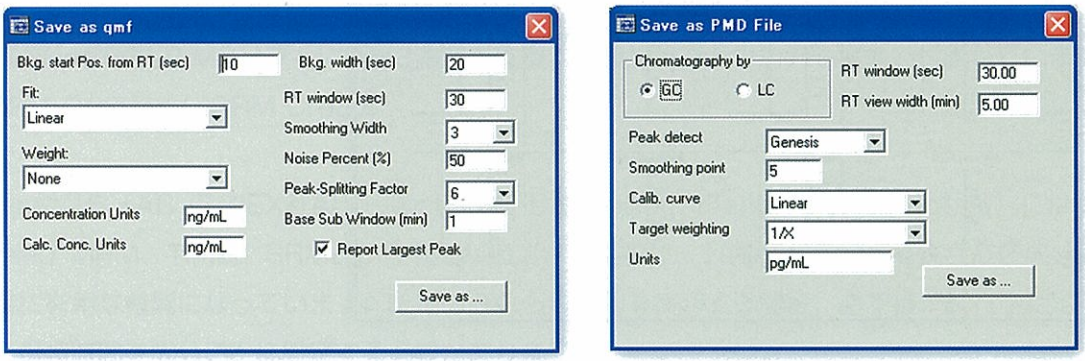



Analyst®




Xcalibur

定量解析用Methodの自動作成機能もサポートしています。




●化合物名や保持時間が自動的に設定された定量解析Methodを生成・保存します。

何100チャンネルもあるような分析条件でもこのツールがあると測定条件や解析条件があっという間に作成できて、設定ミスも最小限に抑えられます。

sMRM Creator / tSRM Creatorはご好評を頂きまして**NANOSPACE以外のお客さまにも**ご利用いただけるようになりました。

| 製品番号 | 商品名 | 標準価格 | システム要件 |
|---|---|---|---|
| 3820 | sMRM Creator | ¥200,000 | Analyst1.5以降 |
| 3830 | tSRM Creator | | Xcalibur2.1以降 |

デモ版もご用意しておりますので、詳しくは当社営業または販売代理店にお問い合わせください。

2回にわたりソフトウエアのご紹介をいたしました。今後も資生堂はHPLC並びに周辺機器の制御ソフトウエアとLC-MSに焦点を当てた支援ソフトウエア開発に注力していきます。普段ご使用のHPLCやLC-MSでお困りな点やご要望がございましたら、お気軽にご用命ください。

# 2 新製品データ

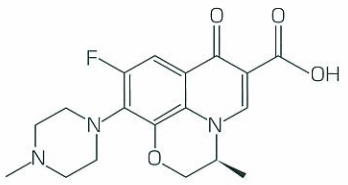
## オートサンプラー NANOSPACE NASCA によるCarryover試験

**Keywords:** NANOSPACE NASCA、レボフロキサシン、Carryover

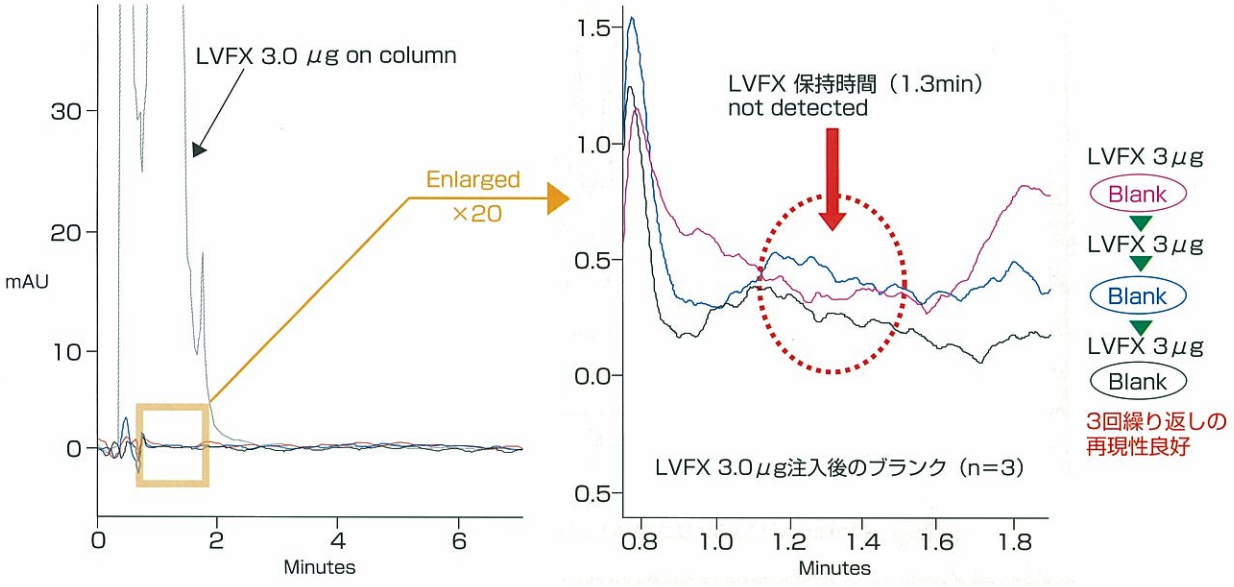
レボフロキサシン（LVFX）は，ニューキノロン系合成抗菌薬であり、これまでの抗菌薬に比べて抗菌力が強く、いろいろな菌に有効です。最近では、ジェネリック商品に配合され販売されています。

このレボフロキサシンは、従来のオートサンプラーではキャリーオーバーがあり、キャリーオーバーの低減化が課題となっていました。

今回、新製品オートサンプラー NANOSPACE NASCA を用いて、レボフロキサシンのキャリーオーバーを測定した結果を示します。サンプルが流路切換えバルブを通らない新インジェクション機能（Straight Injection Technology）を搭載した NANOSPACE NASCA では、キャリーオーバーは、認められませんでした。



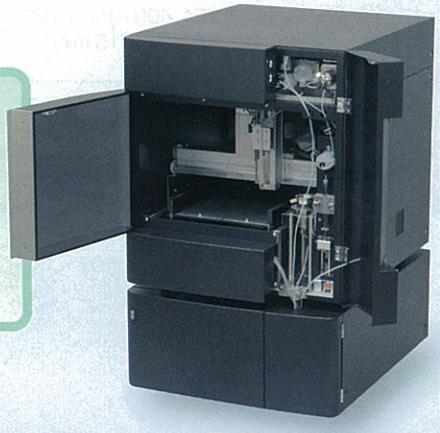

Levofloxacin
Mol. Wt.:361.37




PDA @ 292nmにおけるLVFXクロマトグラム

**【HPLC分析条件】**

カラム　：CAPCELL PAK $C_{18}$ MGⅢ S3；2.0 mm i.d.×50mm
移動相　：A）0.1 vol% HCOOH，B）$CH_3CN$，A / B = 85 / 15
速　度　：200 μL/min
温　度　：40℃
検　出　：PDA @ 292 nm
注入量　：5 μL
試　料　：Sample dissolved in Mobile phase.（Blank - Mobile phase）



# 3 新製品データ

## 核酸・核酸医薬分析専用カラム Nucleonavi（Glass Clad Rod Column）による高速グラジエント分析への適応性

**Keywords:** Nucleonavi、モノリス、高速グラジエント、粒子型、オリゴチミジン

シリカー体型の多孔体であるモノリス型カラム、Nucleonavi（1.0 mm i.d. x 50 mm）による高速分析への適応性を、サンプルに市販のオリゴDNAdT12-18merを用い流速50μL/minから、8倍速の400μL/minで検討しました。

流速の増加とともに、分析時間は短縮し各ピーク対称性が良好になっている事がわかります。

横軸を時間ではなく移動相通過量とすると、これはグラジエントの勾配を1/ 8倍まで減少させることに相当します。その結果、各ピーク間の分離は向上し、流速50μL/minと400μL/minにおけるピークaとbの分離度は1.91から3.22に増加します。

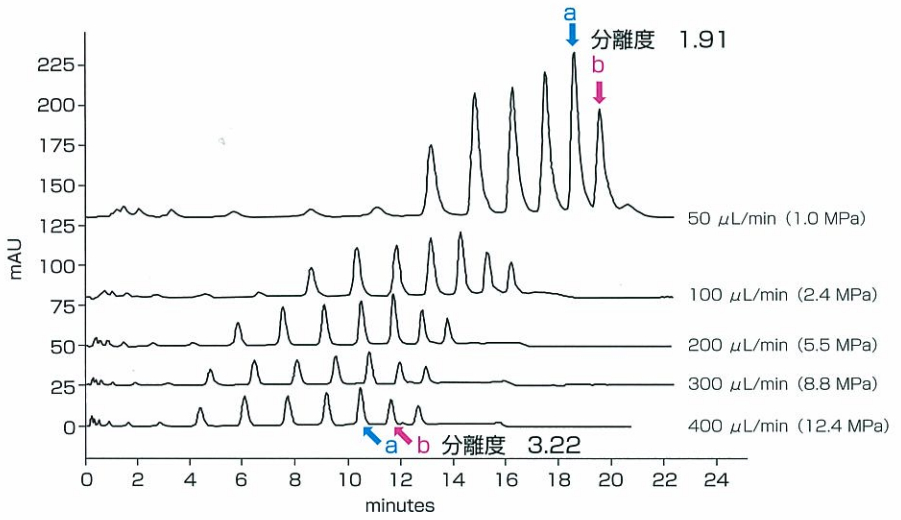
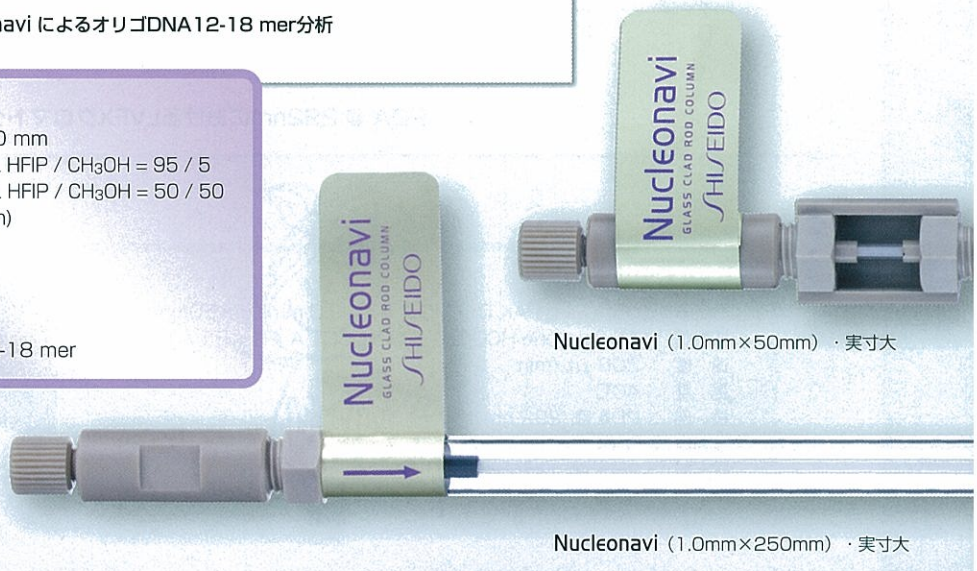



図1 Nucleonavi によるオリゴDNA12-18 mer分析

**【HPLC条件】**

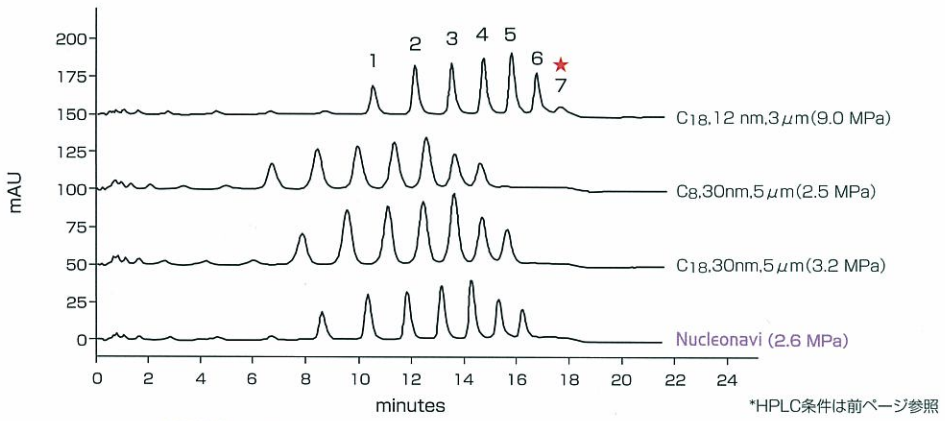
カラム : Nucleonavi 1.0 mm i.d. × 50 mm
移動相 : A) 15 mmol/L TEA, 400 mmol/L HFIP / $CH_3OH$ = 95 / 5
: B) 15 mmol/L TEA, 400 mmol/L HFIP / $CH_3OH$ = 50 / 50
B% 0 (0 min) → 30% (15 min)
速 度 : 50~400 μL / min
温 度 : 40℃
検 出 : PDA @ 260 nm
注入量 : 0.5 μL
試 料 : Oligothymidylic acid d(pT)12-18 mer




Nucleonavi（1.0mm×50mm）・実寸大

Nucleonavi（1.0mm×250mm）・実寸大

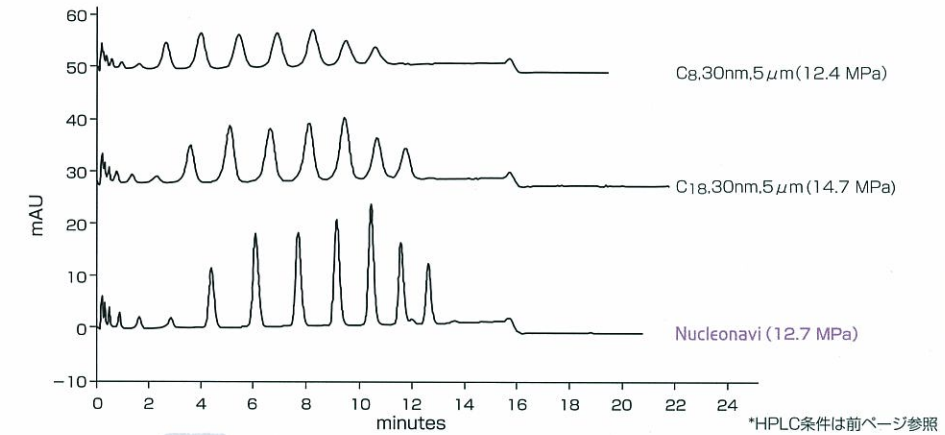
一般に、粒子型充填剤では充填剤の粒子が小さいほど拡散が小さくなるため、5μmより3μmのほうがグラジエントのような液組成変化への早い追従性を示し、高速グラジエントに威力を発揮します。以下に、2倍の線流速を用い、Nucleonaviと3種類の粒子型カラム（細孔径及び粒子径の異なる2種類の$C_{18}$カラム、$C_8$カラム）を比較した例を示します（図2）。Nucleonaviは、30 nmの細孔径をもつ$C_8$及び$C_{18}$カラムに比較して十分な保持力を示しました。またピーク形状については、3μmの$C_{18}$カラムとほぼ同等のシャープなピーク形状を示し、Nucleonaviについてもグラジエント分析において早い追従性が認められました。一方、回収率については、Nucleonaviのほうが良好な結果を示しました（ピーク7を参照）。



*HPLC条件は前ページ参照

図2　線流速 2倍時（100 μL/min）における各カラムの溶離挙動

8倍の流速を用いた場合には、ピークはさらにシャープになり、分離度の向上が認められました（図3）。このようにNucleonaviでは、多成分系からなる試料のグラジエント溶出において、流速を高めることにより、各ピーク間の分離を損なうことなく飛躍的な分析時間の短縮化の可能性が示唆されました。



*HPLC条件は前ページ参照

図3　線流速 8倍時（400 μL/min）における各カラムの溶離挙動

# 4 学会参加予定

資生堂では、特長ある商品のご紹介や弊社製品を利用した分析実績などをお伝えするために、各方面の学会に参加しております。各学会には、普段は研究所にてデータの取得や開発を行う研究員も参加いたします。ぜひ資生堂の展示・発表等をご覧ください。

## 第37回BMSコンファレンス

### 質量分析の多様性（Diversity of Mass Spectrometry）

～人類が抱える多様な問題を解決するために～

【会　　期】2010年7月7日(水)～9日(金)

【会　　場】沖縄残波岬ロイヤルホテル

【参加内容】

・昼食&スポンサーセッション（ランチョン形式）7月8日(木)

『NANOSPACE NASCA およびMSでの使用を想定したカラムのご紹介』

## サーモフィッシャーサイエンティフィック社

### 質量分析計　ユーザーズフォーラム

【会期・会場】　大　阪：7月13日(火) 千里ライフサイエンスセンター

東　京：7月16日(金) 御殿山ガーデンホテルラフォーレ東京

【参加内容】展示：オートサンプラー NANOSPACE NASCA 、sMRM creator のご紹介

## 第23回バイオメディカル分析科学シンポジウム（BMAS2010）

### 真に価値ある分析の発展を目指して

【会　　期】2010年7月21日(水)～7月23日(金)

【会　　場】ホテル松島大観荘（宮城県宮城郡松島町）

【参加内容】

・ランチョンセミナー　7月22日(木)（神田 武利 ）

『カラム紹介　LC-MS分析におけるカラムバリエーション－最適なカラム選択のために－』

『オートサンプラー NANOSPACE NASCA のキャリーオーバー対策　－キャリーオーバー低減を実現した新機構の紹介－』

・展示：LC-MSに適した各種カラム、新製品カラム『Nucleonavi』を中心にご紹介

**第12回日本RNA学会年会**

・・・No RNA, No Life・・・

【会　　期】2010年7月27日(火)～29日(木)

【会　　場】一橋記念講堂

【参加内容】展示：新製品カラム『Nucleonavi』を中心にご紹介

## 5 Real LC café 2010 開催予告

### 2010年11月26日(金)　東京汐留にて開催決定!!

各方面でご活躍中の先生方に、HPLCを使った研究内容をお話いただきます。
ユーザーさまのご参加は無料ですので、ぜひ皆様お誘い合わせの上ご来場ください。
講演内容や申し込み等の詳細については10月発行のLC café No.14に掲載予定です。

## 6 編集後記

LC café No.13はいかがでしたか。2回にわたりお届けしたソフトウェア関連のコラムでしたが、NANOSPACEのソフトウェアを上手く活用いただくことで、NOANOSPACEが一層みなさまの分析のよきパートナーとなることがご理解いただけたことと思います。是非NANOSPACEソフトウェアを活用戴き、日ごろの分析にお役立て下さい。

また、11月開催のReal LC café は、LC café No.14をお持ちのユーザーさまは入場無料の予定ですので、是非みなさまお誘い合わせの上ご参加ください。内容も大変充実したものを予定しておりますので、次号のご案内をお楽しみに！

(担当T.I)

発行元

SHISEIDO 株式会社 資生堂
フロンティアサイエンス事業部

■東日本営業
〒105-0021 東京都港区東新橋1-1-16　汐留FSビル
TEL：03-6253-1412　FAX：03-6253-1416

■西日本営業
〒601-8037 京都市南区東九条西河辺町12
TEL：075-671-0301　FAX：075-671-0302

**http://www.shiseido.co.jp/HPLC/**

■販売代理店

NO.13-5000-2010.7